稻纵卷叶螟感染 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因的序列分析

柴换娜，杜予州*，吴海燕
（扬州大学应用昆虫研究所，江苏扬州 225009）

摘要：*Wolbachia* 是一类胞质遗传的内共生菌，广泛分布于节肢动物和其他动物中，与宿主的生殖调控密切相关。通过研究迁飞性害虫稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée)的 *Wolbachia* 感染情况，为探讨 *Wolbachia* 在迁飞性昆虫中的生殖调控和传递方式等提供基础资料。本研究应用 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因的特异性引物，通过 PCR 扩增的方法对我国 20 个地区的稻纵卷叶螟样本进行了检测。结果表明：中国不同地区的稻纵卷叶螟感染 *Wolbachia* 的现象较为普遍，其中浙江温州和江苏扬州样本的感染率最高(90%)；四川雅安、湖南长沙和天津宁河样本的感染率最低(40%)。不同地区稻纵卷叶螟的 *Wolbachia ftsZ* 基因序列完全一致，而且不同地区的 *Wolbachia* 16S rDNA 基因序列也完全相同。此外，稻纵卷叶螟感染的 *Wolbachia ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因序列与其他物种感染的 *Wolbachia* B 群的 *ftsZ* 基因序列和 16S rDNA 基因序列相似性分别在 99% ~100% 和 98% ~99% 之间，说明我国稻纵卷叶螟感染的 *Wolbachia* 隶属 B 群。研究结果表明，稻纵卷叶螟感染的 *Wolbachia* 类型较为单一，这也是我国有关稻纵卷叶螟内共生菌 *Wolbachia* 的首次研究报道。

关键词：稻纵卷叶螟；*Wolbachia*；*ftsZ*；16S rDNA；感染率；系统发育分析
中图分类号：Q965.8　**文献标识码**：A　**文章编号**：0454-6296(2011)04-0416-09

Sequence analysis of *ftsZ* and 16S rDNA genes of *Wolbachia* in *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae)

CHAI Huan-Na, DU Yu-Zhou*, WU Hai-Yan (Institute of Applied Entomology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: *Wolbachia* is a group of intracellular inherited endosymbiontic bacteria infecting a wide range of arthropods and other animals. The infection status of *Wolbachia* in the migratory pest *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) was studied to provide the basis for revealing the reproductive manipulation mechanism and transmission mechanism of *Wolbachia* in this pest. In this study, specific primers derived from *ftsZ* and 16S rDNA genes were used to amplify DNA of *Wolbachia* from 20 populations of *C. medinalis* in China by polymerase chain reaction (PCR). The results indicated that the *C. medinalis* populations in China were widely infected by *Wolbachia*, the highest infection rate was 90% in Wenzhou of Zhejiang and Yangzhou of Jiangsu, and the lowest rate was 40% in Ya'an of Sichuan, Changsha of Hunan and Ninghe of Tianjin. The *ftsZ* sequences and 16S rDNA sequences were exactly the same in all positive samples from different regions. *Wolbachia ftsZ* sequences and 16S rDNA sequences in *C. medinalis* showed 99% －100% and 98% －99% similarity with others belonging to Group B, respectively, suggesting that *Wolbachia* in *C. medinalis* belong to Group B. The results show that the infection type of *Wolbachia* in the *C. medinalis* is relatively single. This is the first report that *Wolbachia* is distributed in the populations of *C. medinalis* in China.

Key words: *Cnaphalocrocis medinalis*; *Wolbachia*; *ftsZ*; 16S rDNA; infection rate; phylogenetic analysis

Wolbachia(沃尔巴克氏体)是一类呈母性遗传的细胞内立克次氏体，隶属细菌门，变形菌纲的 α 亚纲，立克次氏体目，立克次氏体科，沃尔巴克氏属(Werren, 1997)。*Wolbachia* 广泛分布于节肢动物中，Jeyaprakash 和 Hoy(2000)检测了 63 种节肢动物，发现大约 76% 的昆虫感染了 *Wolbachia*。此

基金项目：公益性行业科研专项(200903051)；国家重点基础研究发展规划("973"计划)项目(2006CB102002)
作者简介：柴换娜，女，1981 年生，河南滑县人，博士研究生，主要从事昆虫生理生化及分子生物学研究，E-mail: chaihuanna@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yzdu@yzu.edu.cn
收稿日期 Received: 2010-11-11；接受日期 Accepted: 2011-03-01

外，*Wolbachia* 在蛛形纲、甲壳纲、螨类以及线虫中也被大量发现（Werren，1997）。随着研究的深入，不断有新的物种被发现感染了 *Wolbachia*，从而使其成为分布最广、丰度最大的胞内共生细菌。*Wolbachia* 主要分布在节肢动物生殖组织的细胞质中，通过诱导宿主胞质不融合（Jaenike *et al*.，2006）、雌性化、孤雌生殖、杀雄和增强宿主生殖力等方式对宿主进行生殖调控（Baldo *et al*.，2005），从而增强了被感染雌性个体对宿主种群密度的调节（Werren *et al*.，2008）和宿主对自然天敌的防御能力（Haine，2008）。近年来的研究表明，一些 *Wolbachia* 品系除了具有调控节肢动物宿主生殖方式的作用外，对宿主种群适合度存在不同程度的影响（褚栋等，2005），如可降低节肢动物宿主生殖力、生命历期和运动能力（Min and Benzer，1997；Fleury *et al*.，2000；Wenseleers *et al*.，2002）；一些研究推测，外来生物逃离 *Wolbachia* 感染可能是其成功入侵的机制之一（Mitchell and Power，2003；Torchin *et al*.，2003）。

早期 *Wolbachia* 的分类研究主要是通过 DAPI 染色和电镜观察。随着分子生物学技术的不断发展和广泛应用，极大地促进了该领域的研究。目前对该菌的鉴定和系统发育研究主要应用以下基因：16S rDNA、细胞分裂蛋白基因（*ftsZ*）、细菌表面蛋白基因（*wsp*）、细菌热激蛋白基因（*groEL*），*coxA*，*fbpA*，*hcpA*，*gatB*，*dnaA* 和 *gltA* 等。根据不同的基因将 *Wolbachia* 分为 A～H 8 个群（group）（Zhou *et al*.，1998；Schulenburg *et al*.，2000；Lo *et al*.，2002；Bordenstein and Rosengaus，2005；Casiraghi *et al*.，2005）。

稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis*（Guenée），隶属鳞翅目、螟蛾科，别名刮青虫、卷叶虫或白叶虫，是一种为害水稻的重要迁飞性害虫。该虫在我国除西藏、新疆和宁夏发生情况不明外，北起黑龙江、内蒙古，南到台湾、海南的各稻区均有发生危害，特别是近年在我国南方广大稻区发生更为严重，对水稻生产造成严重影响（刘宇等，2008）。到目前为止，未见国内有关稻纵卷叶螟感染 *Wolbachia* 的研究报道。为此，我们应用 *Wolbachia ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因的特异性引物，通过 PCR 扩增方法对我国 20 个地区的稻纵卷叶螟感染 *Wolbachia* 的情况进行检测，并对 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因的序列和种系发生关系进行分析，以期为探讨 *Wolbachia* 对迁飞性昆虫的生殖调控和传递方式研究提供基础资料。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

本研究所用的稻纵卷叶螟为 1～4 龄幼虫，分别于 2009 年 7～10 月采自江苏扬州、浙江温州、福建宁德、广东韶关、广西南宁和湖北武汉等全国 20 个地区的稻田（表 2），并将样本直接保存在无水乙醇中，然后带回实验室置于 －70℃ 的冰箱中保存备用。

1.2　稻纵卷叶螟总 DNA 的制备

每个地区选取 20 头 1～4 龄幼虫，如果虫体体长 <1 mm，则取整个虫体，如果虫体体长介于 1～5 mm，则取虫的腹部，然后用超纯水多次洗涤，分别置于装有 300 μL DNA 提取裂解液（100 mmol/L Tris-HCl，50 mmol/L NaCl，50 mmol/L EDTA，1% SDS，0.15 mmol/L 精胺，0.5 mmol/L 亚精胺）的离心管中，加入 2.0 μL 蛋白酶 K 溶液（20 mg/mL），56℃ 水浴 3 h 以上。用水饱和酚（pH 8.0）和氯仿-异戊醇（24∶1）抽提 2 次，离心（12 000 rpm，10 min），上清液中加入醋酸钠溶液（pH 7.0）20 μL 和冰冷无水乙醇 400 μL，－20℃ 保存 2 h 以上离心，沉淀用冰冷 75% 乙醇洗涤后离心，沉淀晾干后溶于适量的双蒸灭菌水中，然后置于 －20℃ 保存待用。

1.3　*Wolbachia* 的 PCR 扩增体系及程序

PCR 扩增参照 Zhou 等（1998）的方法，*Wolbachia ftsZ* 基因的特异性引物：正向引物为 *ftsZ*-F，5′-TACTGACTGTTGGAGTTGTAACTAAGCCGT-3′，反向引物为 *ftsZ*-R，5′-TGCCAGTTGCAAGAACAGAAACTCTAACTC-3′，目的片段大约 600 bp。*Wolbachia* 16S rDNA 的引物是根据 *Escherichia coli* 16S rRNA 而设计的一对特异性引物，正向引物为 16S-F：5′-TTGTAGCCTGCTATGGTATAACT-3′，反向引物为 16S-R：5′-GAATAGGTATGATTTTCATGT-3′，目的片段大约 900 bp。

PCR 反应体系（20 μL）：含模板 DNA（稻纵卷叶螟总 DNA），20 μmol 正向引物和反向引物各 1.5 μL，10 mmol dNTPs 1.5 μL，5 U Taq 酶（TaKaRa）1.2 μL，10 × buffer 2 μL，25 mmol $MgCl_2$ 2 μL，用双蒸水补充至 20 μL，在 PE480 DNA 扩增仪上进行 PCR 扩增反应。*Wolbachia ftsZ* 基因 PCR 扩增程序：95℃ 预变性 3 min；94℃ 1 min，52℃ 1 min，72℃ 1 min 扩增 35 个循环，然后 72℃ 处理 10 min。*Wolbachia* 16S rDNA 的退火温度为 55℃，其他程序参照 *ftsZ* 基因的 PCR 扩增程序，每个样本重复 3 次。

1.4　*Wolbachia* 扩增产物的检测及克隆测序

扩增反应结束后，将 PCR 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶于 0.5 × TBE 电泳缓冲液中电泳，电压 70 V，电泳时间约 1 h。电泳结束后以溴化乙锭染色，凝胶成像系统检测并摄影。DNA 分子量标准物为 DL2000 Marker(TaKaRa)，并且以水为阴性对照，以明确 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因的存在与否及扩增片段的大小。然后将目的片段回收，纯化后与 pMD18-T 载体(TaKaRa)在 4℃ 连接过夜。将连接产物与感受态细胞(DH5α)进行热激转化并涂板，每个样筛选 3 个阳性克隆。最后委托北京中美泰和生物技术有限公司测序，为确保测序结果的准确性，均在 ABI PRISMTM 370XL DNA 自动测序仪上进行双向测序。

1.5　*Wolbachia* 的序列分析

DNA 序列检索和相似性比较利用 NCBI 网站上的 BLAST 工具，然后利用 DNAStar (Lasergene® v5.0) 和 Clustal X 4.0 软件对所测得的 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因序列以及 GenBank 中已登陆的其他相关物种的 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因序列进行比对和相似性分析(相关序列详见表 1)。最后使用 Mega 4.0 进行邻近法(Neighbor-Joining method)构建系统进化树，计算遗传距离采用 Kimura 2-parameter 模型，并进行 1 000 次的自导复制(Bootstrap replication)检验分子系统树各分支的置信度。分别以感染 *Wolbachia* A 群的松针瘿蚊 *Thecodiplosis japonensis* (GenBank 登录号：AF220605) 和拟果蝇 *Drosophila simulans* (GenBank 登录号：AY227742) 作为 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因系统进化树的外群。

表 1　用于系统发育分析的 *Wolbachia ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因序列

Table 1　Reference sequences of *Wolbachia ftsZ* and 16S rDNA used in the phylogenetic analysis

物种 Host species	采集地点 Collecting locality	*Wolbachia* 类型 *Wolbachia* type	GenBank 登录号 GenBank accession no.	
			ftsZ	16S rDNA
珍蝶 *Acraea encedon*	坦桑尼亚 Tanzania	B	AJ271199	–
二星瓢虫 *Adalia bipunctata*	中国 China	B	EU627753	–
白纹伊蚊 *Aedes albopictus*	美国 USA	B	WSU28206	–
螟蛾 *Agriphila tristella*	英国 UK	B	AJ005882	–
烟粉虱 *Bemisia tabaci*	中国 China	B	EU627760	AY850932
粉斑螟蛾 *Cadra cautella*	日本 Japan	B	AB478515	–
淡色库蚊 *Culex pipiens*	阿根廷 Argentina	B	GU901160	–
尺蛾 *Cyclophora punctaria*	英国 UK	B	AJ005881	–
洋红蚧 *Dactylopius* sp.	德国 Germany	B	AM180552	AM180549
拟果蝇 *Drosophila simulans*	美国 USA	B	AY508999	–
粉斑螟 *Ephestia cautella*	美国 USA	B	WSU28207	–
蒙氏浆角蚜小蜂 *Eretmocerus mundus*	埃及 Egypt	B	EU627765	–
宽边黄粉蝶 *Eurema hecabe*	日本 Japan	B	AB107224	–
栗瘿蜂 *Gronotoma micromorpha*	日本 Japan	B	AB037894	–

续表 1　Table 1 continued

物种 Host species	采集地点 Collecting locality	*Wolbachia* 类型 *Wolbachia* type	GenBank 登录号 GenBank accession no.	
			ftsZ	16S rDNA
异色瓢虫 *Harmonia axyridis*	中国 China	B	EU627750	–
拟菱纹叶蝉 *Hishimonoides sellatiformis*	日本 Japan	B	AB073733	–
幻紫斑蛱蝶 *Hypolimnas bolina*	日本 Japan	B	AB167399	–
隆脊瘿蜂科 *Leptopilina australis*	美国 USA	B	WSU28210	–
稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus*	美国 USA	B	DQ256472	–
椿象 *Macrolophus pygmaeus*	比利时 Belgium	B	FJ374285	–
十斑大瓢虫 *Megalocaria dilatata*	中国 China	B	EU627755	–
胡蜂 *Nasonia giraulti*	美国 USA	B	WSU28203	–
玫瑰金龟子 *Naupactus cervinus*	阿根廷 Argentina	B	GQ402144	–
麻田豆秆野螟 *Ostrinia scapulalis*	日本 Japan	B	AB077202	–
潜叶虫 *Parornix devoniella*	英国 UK	B	AJ005888	–
潜叶虫 *Phyllonorycter froelichiella*	英国 UK	B	AJ005883	–
潜叶虫 *Phyllonorycter quinnata*	英国 UK	B	AJ005887	–
原丽蝇 *Protocalliphora* sp.	美国 America	B	WSU28202	–
刀角瓢虫 *Serangium japonicum*	中国 China	B	EU627754	–
松针瘿蚊 *Thecodiplosis japonensis*	韩国 Korea	A	AF220605	–
杂拟谷盗 *Tribolium confusum*	美国 USA	B	WSU97352	–
印巴黄蚜小蜂 *Aphytis melinus*	美国 USA	B	–	EU981291
桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*	中国 China	B	–	DQ098949
苜蓿苔螨 *Bryobia praetiosa*	荷兰 Netherland	B	–	EU499317
致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus*	英国 UK	B	–	AM999887
柑橘木虱之红腹跳小蜂 *Diaphorencyrtus aligarhensis*	美国 USA	B	–	EF433794
柑橘木虱 *Diaphorina citri*	美国 USA	B	–	EF433793

续表 1　Table 1 continued

物种 Host species	采集地点 Collecting locality	*Wolbachia* 类型 *Wolbachia* type	GenBank 登录号 GenBank accession no.	
			ftsZ	16S rDNA
柑橘木虱 *Diaphorina citri*	中国 China	B	–	GU563892
拟嗜凤梨果蝇 *Drosophila pseudoananassae*	美国 USA	B	–	DQ412081
拟果蝇 *D. simulans*	澳大利亚 Australia	A	–	AY227742
西方盲走螨 *Metaseiulus occidentalis*	美国 USA	B	–	AY754820
丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis*	美国 USA	B	–	M84686
鸽蝇 *Pseudolynchia canariensis*	美国 USA	B	–	DQ115538
蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum*	中国 China	B	–	EU827689
蝶蛹金小蜂 *P. puparum*	中国 China	B	–	EU827690
白背飞虱 *Sogatella furcifera*	中国 China	B	–	GQ206310
酢浆草如叶螨 *Tetranychina harti*	中国 China	B	–	GQ162484
二斑叶螨 *Tetranychus urticae*	美国 USA	B	–	AY753174
叶蝉 *Zyginidia pullula*	意大利 Italy	B	–	DQ203854

2　结果与分析

2.1　稻纵卷叶螟 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因序列的 PCR 检测

利用 *Wolbachia ftsZ* 基因和 16S rDNA 特异性引物分别对全国20个地区的稻纵卷叶螟样本进行了PCR 扩增，从 250 个阳性样本中分别扩增到 600 bp 和 900 bp 大小的片段(图 1，2)。

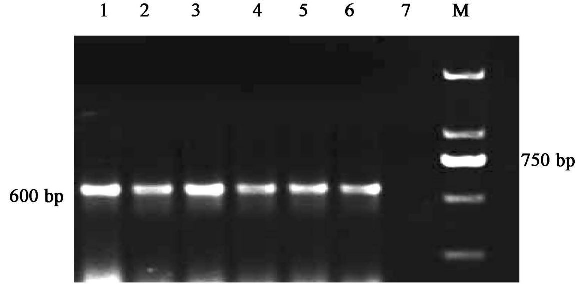


图 1　特异性引物扩增得到的稻纵卷叶螟 *Wolbachia ftsZ* 基因 PCR 产物电泳图

Fig. 1　Electrophoresis of PCR products of *Wolbachia ftsZ* gene from *Cnaphalocrocis medinalis* amplified with specific primers

M：DNA 分子量标准物 DNA molecular weight marker；1 –6：不同地区的稻纵卷叶螟样本(对应表 2 种群代码 1 ~ 6) Different populations of *C. medinalis* (corresponding to population code 1 to 6 in Table 2)；7：以水作为阴性对照 Water as the negative control. 图 2 同 The same for Fig. 2.

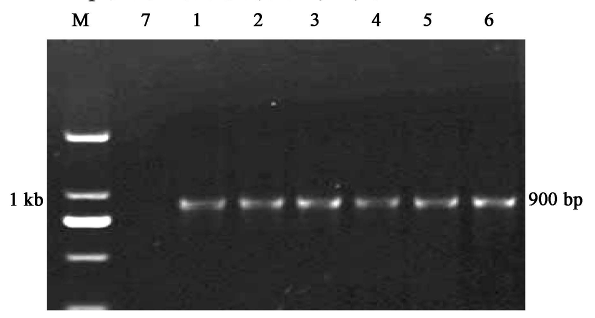


图 2　特异性引物扩增的稻纵卷叶螟 *Wolbachia* 16S rDNA 的 PCR 产物电泳图

Fig. 2　Electrophoresis of PCR products of *Wolbachia* 16S rDNA gene from *Cnaphalocrocis medinalis* amplified with specific primers

2.2　稻纵卷叶螟的 *Wolbachia* 感染率

全国 20 个地区的稻纵卷叶螟 *Wolbachia* 感染率检测结果见表 2。从表 2 可以看出，稻纵卷叶螟 *Wolbachia* 感染率在 40% ~90% 之间，其中江苏扬州和浙江温州的样本感染率最高，为 90%；四川雅安、湖南长沙和天津宁河的样本感染率最低，为 40%。

表 2　不同地区稻纵卷叶螟感染 *Wolbachia* 的情况

Table 2　*Wolbachia* infections of *Cnaphalocrocis medinalis* from different regions

样本编号 Sample code	采集地点 Collecting locality	采样日期 Collecting date	检测虫数 Number of insects tested	感染率(%) Infection rate
1	湖南长沙 Changsha, Hunan	2009/09/24	20	40
2	海南儋州 Danzhou, Hainan	2009/08/22	20	70
3	江西吉安 Ji'an, Jiangxi	2009/08/27	20	80
4	山东济南 Jinan, Shandong	2009/07/10	20	60
5	云南丽水 Lishui, Yunnan	2009/08/31	20	80
6	江西南昌 Nanchang, Jiangxi	2009/08/28	20	60
7	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	2009/10/12	20	80
8	广西南宁 Nanning, Guangxi	2009/10/09	20	60
9	浙江宁波 Ningbo, Zhejiang	2009/08/21	20	80
10	福建宁德 Ningde, Fujian	2009/08/19	20	60
11	天津宁河 Ninghe, Tianjin	2009/07/15	20	40
12	贵州三都 Sandu, Guizhou	2009/09/09	20	60
13	广东韶关 Shaoguan, Guangdong	2009/09/26	20	50
14	浙江温州 Wenzhou, Zhejiang	2009/09/04	20	90
15	湖北武汉 Wuhan, Hubei	2009/08/07	20	50
16	福建武夷山 Wuyishan, Fujian	2009/08/22	20	60
17	河南新乡 Xinxiang, Henan	2009/08/10	20	50
18	四川雅安 Ya'an, Sichuan	2009/10/01	20	40
19	江苏扬州 Yangzhou, Jiangsu	2009/10/10	20	90
20	云南昭通 Zhaotong, Yunnan	2009/09/25	20	50

2.3　稻纵卷叶螟 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因与 16S rDNA 基因序列分析

利用 NCBI 网站上 BLAST 工具将所测的稻纵卷叶螟感染的 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因序列与 16S rDNA 基因序列进行检索和相似性比较，结果表明：250 个稻纵卷叶螟阳性样本感染的 *ftsZ* 基因片段均为 570 bp，序列完全一致（GenBank 登录号：HQ336508）；250 个阳性样本的 16S rDNA 基因片段均为 900 bp，序列也是完全一致（GenBank 登录号：HQ336509）。

通过 Mega 4.0 软件采用 NJ 邻接法对所测的稻纵卷叶螟的 *Wolbachia ftsZ* 基因序列和 16S rDNA 基因序列以及 GenBank 中相关物种感染的 *Wolbachia ftsZ* 基因序列和 16S rDNA 基因序列分别构建系统进化树（图 3，4）。由图 3 可以看出，稻纵卷叶螟的 *Wolbachia ftsZ* 基因序列与系统进化树中其他参与分析的 *Wolbachia* B 群的 *ftsZ* 基因序列相似性在 98.9% ~100% 之间，其中与感染珍蝶 *Acraea encedon*（GenBank 登录号：AJ271199）、幻紫斑蛱蝶

Hypolimnas bolina（GenBank 登录号：AB167399）、小潜细蛾 *Phyllonorycter quinnata*（GenBank 登录号：AJ005887）和毛细蛾 *Parornix devoniella*（GenBank 登录号：AJ005888）的 *Wolbachia ftsZ* 基因的序列一致，即相似性为 100%；而与感染 4 种瓢虫的 *Wolbachia ftsZ* 基因序列相似性最低，但相似性也高达 99%。此外，稻纵卷叶螟的 *Wolbachia* 16S rDNA 基因序列与系统进化树（图 4）中其他参与分析的 B 群 *Wolbachia* 16S rDNA 基因序列也有很高的相似性，即在 98% ~99% 之间，其中与桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*（GenBank 登录号：DQ098949）的 16S rDNA 基因序列相似性最高，为 99%，它们仅有 1 个碱基的差异，即第 341 位的碱基 A-G 发生转换。这些研究结果表明，感染我国稻纵卷叶螟的 *Wolbachia* 为 B 群。

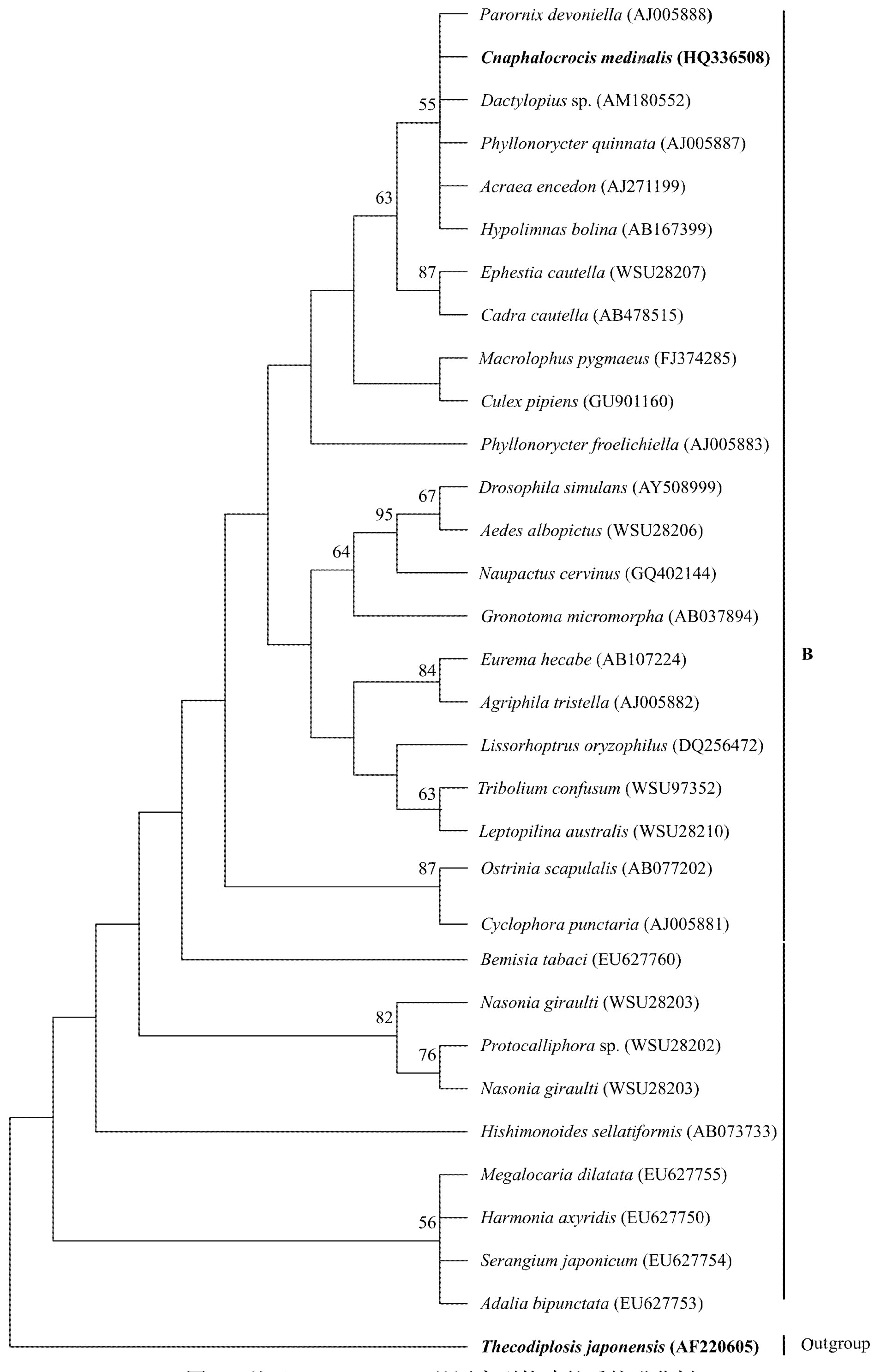


图 3 基于 *Wolbachia ftsZ* 基因序列构建的系统进化树

Fig. 3 The neighbour-joining phylogenetic tree of *Wolbachia* based on *ftsZ* sequences

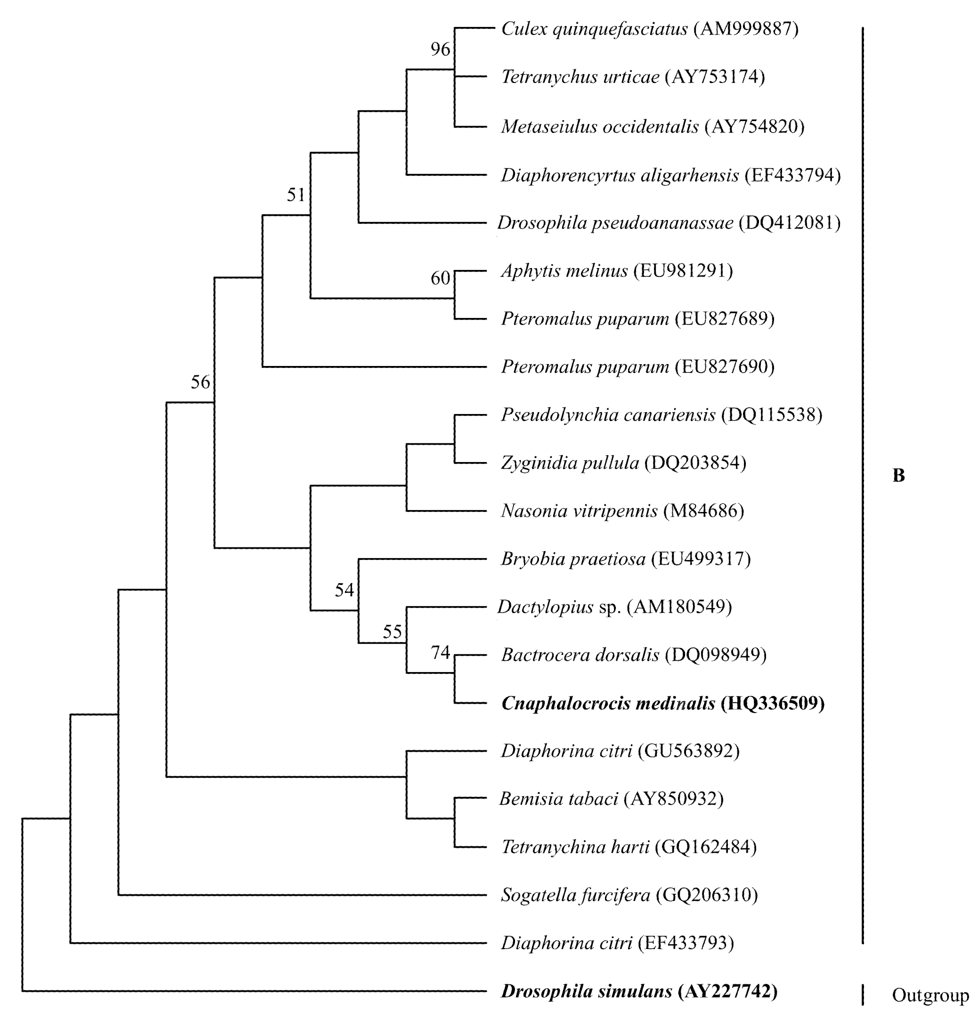


图 4　基于 *Wolbachia* 16S rDNA 基因序列构建的系统进化树

Fig. 4　The neighbour-joining phylogenetic tree of *Wolbachia* based on 16S rDNA sequences

3　讨论

自 1924 年首次发现 *Wolbachia* 以来，已知其宿主分布广泛，遍布昆虫纲的主要目和其他一些节肢动物以及其他类群的物种，而受 *Wolbachia* 感染的物种数量也在随着研究的深入而不断增加，如 Werren 等(1995)报道 16% 的新热带地区昆虫种类感染 *Wolbachia*；West 等(1998)报道抽样调查的英国昆虫，*Wolbachia* 的感染率为 22%；Werren 和 Windsor (2000)报道印第安纳州、巴拿马和英国 3 个地区的昆虫 *Wolbachia* 感染率为 20%。本研究系统检测了我国 20 个地区 400 个稻纵卷叶螟样本的 *Wolbachia* 感染情况，其平均感染率高达 62.5%。这也说明无论是迁飞性昆虫还是迁移性小的昆虫，都具有较高的 *Wolbachia* 感染率。

本文研究表明，不同地区稻纵卷叶螟 *Wolbachia ftsZ* 基因序列完全一致，而且不同地区的 *Wolbachia* 16S rDNA 基因序列也完全相同。其原因可能是稻纵卷叶螟为迁飞性昆虫，由于远距离迁飞，从而促进了同一 *Wolbachia* 类型在不同地区间的广泛传递，关于迁飞性昆虫传递 *Wolbachia* 的机制还有待进一步研究。

Wolbachia 的传递方式主要为垂直的母系传递方式(Hoffmann *et al.*, 1990)，但目前的研究表明，*Wolbachia* 的系统发生与宿主的系统发生并未表现出一致的对应关系。据此推测 *Wolbachia* 在同种宿主的不同个体间、在不同物种的宿主间均有不同程度的水平传递(Werren *et al.*, 1995；Zhou *et al.*, 1998)，如 Fialho 和 Steven(1996)发现 8 个不同地理种群的杂拟谷盗 *Tribolium confusum* 同时感染一种 *Wolbachia* 的现象；Heath 等(1999)认为物种之间进行水平传递可能存在一种自然发生的机制来调控；Jeyaprakash 和 Hoy(2000)也曾提到 *Wolbachia* 在不同的节肢动物中存在水平传递；Kittayapong 等(2003)推测水稻三化螟 *Scirpophaga incertulas*

(Walker)与三化螟茧蜂 *Tropobracon schoenobii* (Viereck)所感染的 *Wolbachia* 之间存在水平传递的可能性。此外，*Wolbachia* 水平传递现象在蜘蛛中也普遍存在(Rowley *et al*., 2004)。本文研究表明，同一地区或不同地区的稻纵卷叶螟 *Wolbachia ftsZ* 基因序列完全相同，16S rDNA 基因序列也是一致的。在 *Wolbachia ftsZ* 基因系统进化树中可以看到，稻纵卷叶螟与一些鳞翅目昆虫具有完全一致的 *Wolbachia ftsZ* 基因序列，而且与其亲缘关系较远的膜翅目、鞘翅目和同翅目昆虫等感染的 *Wolbachia ftsZ* 基因也具有很高的相似性；而在 *Wolbachia* 16S rDNA 基因系统进化树中，稻纵卷叶螟与其亲缘关系较远的双翅目、同翅目、膜翅目昆虫，以及螨类宿主中感染的 *Wolbachia* 16S rDNA 基因也具有很高的相似性，这也进一步说明 *Wolbachia* 在同一宿主种内以及与其他亲缘关系较远的宿主之间可能存在水平传递。

鉴于本文仅用 *Wolbachia ftsZ* 基因和 16S rDNA 基因来检测稻纵卷叶螟的 *Wolbachia* 感染情况，以及利用系统进化树分析 *Wolbachia* 的类型，尽管能够做出相应的判断，但还需要应用其他一些方法对目前的结果做进一步验证，如应用 *Wolbachia wsp* 基因等相关基因同时进行的多位点序列分型(MLST)确定 *Wolbachia* 类型(Paraskevopoulos *et al*., 2006)。

参考文献(References)

Baldo L, Lo N, Werren JH, 2005. Mosaic nature of the *Wolbachia* surface protein. *J. Bacteriol*., 187: 5406 – 5418.

Bordenstein S, Rosengaus RB, 2005. Discovery of a novel *Wolbachia* supergroup in Isoptera. *Curr. Microbiol*., 51: 393 – 398.

Casiraghi M, Bordenstein SR, Baldo L, Lo N, Beninati T, Wernegreen JJ, Werren JH, Bandi C, 2005. Phylogeny of *Wolbachia pipientis* based on *gltA*, *groEL* and *ftsZ* gene sequences: clustering of arthropod and nematode symbionts in the F supergroup, and evidence for further diversity in the *Wolbachia* tree. *Microbiology*, 151: 4015 – 4022.

Chu D, Zhang YJ, Bi YP, Fu HB, 2005. *Wolbachia* endosymbionts and their effects on the fitness of the arthropod hosts. *Acta Microbiol. Sin*., 45(5): 817 – 820. [褚栋，张友军，毕玉平，付海滨，2005. *Wolbachia* 属共生菌及其对节肢动物宿主适合度的影响. 微生物学报，45(5): 817 – 820]

Fialho RF, Stevens L, 1996. *Wolbachia* infections in the flour beetle *Tribolium confusum*: evidence for a common incompatibility type across strains. *J. Invert. Pathol*., 67: 195 – 197.

Fleury F, Vavre F, Ris N, Fouillet P, Bouletreau M, 2000. Physiological cost induced by the maternally transmitted endosymbiont *Wolbachia* in the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina heterotoma*. *Parasitology*, 121: 493 – 500.

Haine ER, 2008. Symbiont-mediated protection. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*., 275: 353 – 361.

Heath BD, Butcher RD, Whitfield WG, Hubbard SF, 1999. Horizontal transfer of *Wolbachia* between phylogenetically distant insect species by a naturally occurring mechanism. *Curr. Biol*., 9: 313 – 316.

Hoffmann AA, Turelli M, Harshman LG, 1990. Factors affecting the distribution of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*. *Genetics*, 126: 933 – 948.

Jaenike J, Dyer KA, Cornish C, Minhas MS, 2006. Asymmetrical reinforcement and *Wolbachia* infection in *Drosophila*. *PLoS Biol*., 4(10): 325.

Jeyaprakash A, Hoy MA, 2000. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: *wsp* sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. *Insect Mol. Biol*., 9(4): 393 – 405.

Kittayapong P, Jamnongluk W, Thipaksorn A, Milne JR, Sindhusake C, 2003. *Wolbachia* infection complexity among insects in the tropical rice-field community. *Mol. Ecol*., 12(4): 1049 – 1060.

Liu Y, Wang JQ, Feng XD, Jiang XH, 2008. Analysis on the occurrence of *Cnaphalocrocis medinalis* in 2007 and forecasting its occurring trends in 2008. *China Plant Protection*, 28(7): 33 – 35. [刘宇，王建强，冯晓东，蒋学辉，2008. 2007 年全国稻纵卷叶螟发生实况分析与 2008 年发生趋势预测. 中国植保导刊，28(7): 33 – 35]

Lo N, Casiraghi M, Salati E, Bazzocchi C, Bandi C, 2002. How many *Wolbachia* supergroups exist? *Mol. Biol. Evol*., 19: 341 – 346.

Min KT, Benzer S, 1997. *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(20): 10792 – 10796.

Mitchell CE, Power AG, 2003. Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. *Nature*, 421: 625 – 626.

Paraskevopoulos C, Bordenstein SR, Wernegreen JJ, Werren JH, Bourtzis K, 2006. Towards a *Wolbachia* multilocus sequence typing system: discrimination of *Wolbachia* strains present in *Drosophila* species. *Curr. Microbiol*., 53: 388 – 395.

Rowley SM, Raven RJ, McGraw EA, 2004. *Wolbachia pipientis* in Australian spiders. *Curr. Microbiol*., 49: 208 – 214.

Schulenburg JH, Hurst GDD, Huigens TM, Van Meer MM, Jiggins FM, Majerus ME, 2000. Molecular evolution and phylogenetic utility of *Wolbachia ftsZ* and *wsp* gene sequences with special reference to the origin of male-killing. *Mol. Biol. Evol*., 17: 584 – 600.

Torchin ME, Lafferty KD, Dobson AP, McKenzie VJ, Kuris AM, 2003. Introduced species and their missing parasites. *Nature*, 421: 628 – 630.

Wenseleers T, Sundstrom L, Billen J, 2002. Deleterious *Wolbachia* in the ant *Formica truncorum*. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*., 269: 623 – 629.

Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Ann. Rev. Entom*., 42: 587 – 609.

Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat. Rev. Microbiol*., 6: 741 – 751.

Werren JH, Windsor DM, 2000. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*., 267: 1277 – 1285.

Werren JH, Zhang W, Guo LR, 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*., 261: 55 – 63.

West SA, Cook JM, Werren JH, Godfray HCJ, 1998. *Wolbachia* in two insect host-parasitoid communities. *Mol. Ecol*., 7(11): 1457 – 1465.

Zhou W, Rousset F, O'Neill SL, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*., 265: 509 – 515.

(责任编辑：袁德成)